

**PENGARUH LAMA SIMPAN EKSTRAK KULIT
APEL MANALAGI (*Malussylvestris* Mill.)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Escherichia coli dan *Streptococcus agalactiae*
PENYEBAB MASTITIS SAPI PERAH**

SKRIPSI

Oleh:
YUNANDA SORAYA
NIM. 12505010111124



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

repository.ub.ac.id

**PENGARUH LAMA SIMPAN EKSTRAK KULIT
APEL MANALAGI (*Malussylvestris* Mill.)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Escherichia coli dan *Streptococcus agalactiae*
PENYEBAB MASTITIS SAPI PERAH**

SKRIPSI

Oleh:
YUNANDA SORAYA
NIM. 12505010111124



Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

**PENGARUH LAMA SIMPAN EKSTRAK KULIT APEL
MANALAGI (*Malussylvestris* Mill.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* dan
Streptococcus agalactiae PENYEBAB MASTITIS SAPI
PERAH**

SKRIPSI

Oleh :
Yunanda Soraya
NIM. 125050101111124

Telah dinyatakan lulus dalam ujian sarjana
Pada Hari/Tanggal: Senin / 12 Februari 2018

Menyetujui:

Tanda Tangan

Tanggal

Pembimbing Utama

Dr. Ir. Pugh Suriwardojo, MS

NIP. 19571216 198403 1 00 1

Pembimbing Pendamping

Dr. Ir. Tri Eko Susilorini, MP

NIP. 19580711 198601 2 001

Penguji

Dr. Ir. Herni Sudarwati, MS

NIP. 19540227 198303

Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS

NIP. 19600512 198701 1 001

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan

Universitas Brawijaya

(Prof. Dr. S. Agr. Ir. Suyadi, MS)

NIP. 19620403 198701 1 001

Tanggal

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Yunanda Soraya dilahirkan di Tulungagung, Kecamatan Campurdarat, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur pada tanggal 23 Februari 1994 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, pasangan Bapak Suryono dan Ibu Suprihatin. Penulis memulai pendidikan di SD Negeri 1 Campurdarat pada tahun 2000 dan lulus pada tahun 2006. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Campurdarat dan lulus pada tahun 2009. Penulis melanjutkan pendidikannya di SMK Negeri 3 Boyolangu dan lulus pada tahun 2012. Penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang melalui jalur SNMPTN Undangan pada tahun 2012.

Selama kuliah penulis pernah mengikuti kegiatan extra yaitu KIM Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Selain itu, penulis juga mengikuti kegiatan Praktek Kerja Lapang (PKL) yang dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan September 2015 di CV. Aroma Citra Mandiri, Karangploso Malang dengan judul “Manajemen Pemeliharaan Kambing Peranakan Etawa (PE) Di Pusat Pelatihan Pertanian dan Pedesaan Swadaya (P4S) Aroma Citra Mandiri Desa Ngenep, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang”.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan nikmat serta rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Pengaruh Lama Simpan Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malussylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Streptococcus Agalactiae* Penyebab Mastitis Sapi Perah" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Pelaksanaan dan penyusunan laporan ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kasih dan karunia-Nya serta keluarga tercinta, Bapak Suryono, Ibu Suprihatin, adik Isa Yulio Soraya dan adik Hanito Yustisio Soraya yang telah memberikan semangat moril dan materil kepada penulis.
2. Bapak Dr. Ir. Puguh Surjowardojo, MS dan Ibu Dr. Ir. Tri Eko Susilorini, MP dan selaku dosen pembimbing yang telah sabar dalam membimbing serta mengarahkan dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan skripsi.
3. Dr. Ir. Herni Sudarwati, MS, dan Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS, selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran yang membangun dalam pembuatan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

5. Dr. Ir. Sri Minarti, MP selaku Ketua Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya berserta staf jajarannya.
6. Ir. Nur Cholis, MS selaku Ketua Bagian Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
7. Ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya beserta staf jajarannya yang telah memfasilitasi penulis selama penelitian.
8. Sefry, Kanzul, dan Rifky selaku teman penelitian.
9. Seluruh teman seperjuangan mahasiswa angkatan 2012 Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya atas pengalaman yang pernah di alami bersama.
10. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga laporan ini bermanfaat bagi semua pihak. Kritik dan saran sangat dibutuhkan dalam penyempurnaan laporan ini.

Malang, Februari 2018

Penulis

The Effect Storage Time of Extracts Manalagi Apple Skin to Growth of *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae* That Cause Mastitis Diseases in Dairy Cattle

Yunanda Soraya¹⁾, Puguh Surjowardojo²⁾ and Tri Eko
Susilorini²⁾

¹⁾Student of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya
University

²⁾Lecturer of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya
University

ABSTRACT

The study was conducted from April 25 – June 20, 2016 Laboratory of Bacteriology, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. The purpose of this study was to examine the effectiveness of Manalagi apple skin extract inhibited the growth of *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli* during storage at room temperature. This study research method with experiment uses the Completely Randomized Design with 5 treatments and 5 replications. Manalagi apple skin extract with a concentration of 50% tested for T1 (24th hour), T2 (48th hour), T3 (72th hour), T4 (96th hour) and T0 (1st hour) as a control. The results showed that Manalagi apple skin extract with ethanol has a very significant effect ($P < 0.01$) in inhibiting bacterial growth, so the result was followed by LSD (*Least Significance Different*), because there are differences between variables. T0 of Manalagi Apple skin extracted with ethanol has a high inhibitory *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli*. T1 has inhibiting bacterial almost equal to T0. Advised of the results of this study, Manalagi apple skin extract with ethanol can be used as a teat dipping with a maximum storage time is 24 hours.

Keywords: *Apple skin, Storage, Inhibition ability.*



**PENGARUH LAMA SIMPAN EKSTRAK KULIT
APEL MANALAGI TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli* dan *Streptococcus
agalactiae* PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI
PERAH**

Yunanda Soraya¹⁾, Puguh Surjowardojo²⁾ dan Tri Eko
Susilorini²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

RINGKASAN

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 25 April sampai dengan 20 Juni 2016 di Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Materi dalam penelitian ini menggunakan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* yang merupakan stok biakan bakteri dari Laboratorium Bakteriologi HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Kulit apel manalagi diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 50%. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini yakni P₀ (jam ke-1) sebagai perlakuan kontrol, P₁ (jam ke-24), P₂ (jam ke-48) P₃ (jam ke-72) dan P₄ (jam ke-96). Variabel yang diukur adalah zona hambat pertumbuhan bakteri. Uji daya hambat ekstrak kulit apel manalagi terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* dan

Escherichia coli dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analisis of Varians* (ANOVA) dan hasil analisis dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) pada penyimpanan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dengan pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*. Diameter zona hambat tertinggi dihasilkan oleh ekstrak etanol kulit apel manalagi pada bakteri *Streptococcus agalactiae* P_0 (jam ke-1, sebagai kontrol) ($18,37 \pm 0,725$ mm), sedangkan diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi pada bakteri *Escherichia coli* P_0 (jam ke-1, sebagai kontrol) ($14,64 \pm 0,541$ mm). Hasil rata-rata ekstrak kulit apel manalagi yang disimpan selama beberapa jam masih dapat menghambat bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* meskipun mengalami penurunan pada setiap perlakuan penyimpanan.

Kesimpulan penelitian ini yaitu terdapat pengaruh perbedaan lama penyimpanan ekstrak kulit apel Manalagi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 50% yang disimpan pada suhu ruang ($\pm 28^\circ\text{C}$). Pada penyimpanan jam ke-24 (1 hari) memiliki potensi yang sama dengan ekstrak kulit apel Manalagi dengan pelarut etanol tanpa penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disarankan ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol disimpan sampai jam ke-24 (1 hari) agar lebih efektif dalam menghambat bakteri.

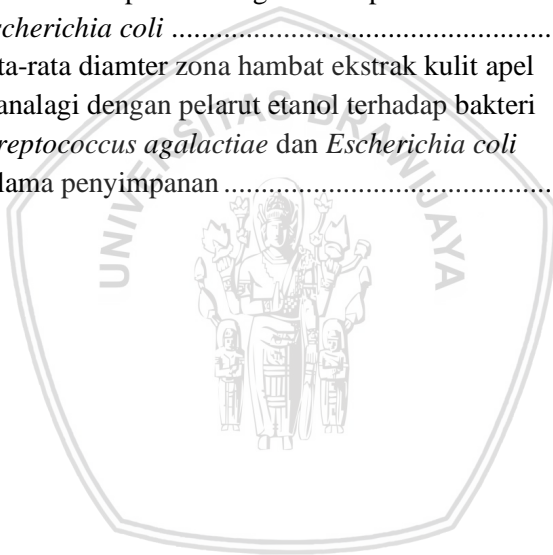
DAFTAR ISI

RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Kerangka Pikir	5
1.6 Hipotesis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Mastitis	9
2.2 Bakteri Mastitis.....	10
2.2.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	10
2.2.2 Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	11
2.3 Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.)	13
2.3.1 Kandungan Kulit Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	15
2.4 Ekstraksi dan Pelarut.....	16
2.5 Lama Simpan Ekstrak	18
BAB III MATERI DAN METODE	
PENELITIAN.....	21
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
3.2 Materi Penelitian	21
3.3 Metode Penelitian	22
3.4 Tahapan Penelitian	22

3.4.1. Prosedur Ekstraksi Kulit Apel Manalagi.....	22
3.4.2 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Kulit Apel.....	23
3.4.3 Pembuatan Media <i>Nutrient Agar</i> (NA)	23
3.4.4 Uji Daya Hambat Bakteri	24
3.4.5 Pengukuran Diameter Zona Hambat	25
3.5 Variabel Penelitian	25
3.6 Analisis Data	25
3.7 Batasan Istilah	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Ekstraksi Kulit Apel Manalagi	27
4.2 Uji Daya Hambat Bakteri <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i>	29
4.3 Uji Daya Hambat Bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
4.4 Pengaruh Lama Penyimpanan Kulit Apel Manalagi Dengan Pelarut Etanol Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Escherichia</i> <i>coli</i>	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	30
2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
3. Rata-rata diamter zona hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Escherichia coli</i> selama penyimpanan	36





DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian	7
2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	10
3. Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	12
4. Buah apel manalagi	14
5. Diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	31
6. Diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i>	34
7. Zona hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Escherichia coli</i>	38



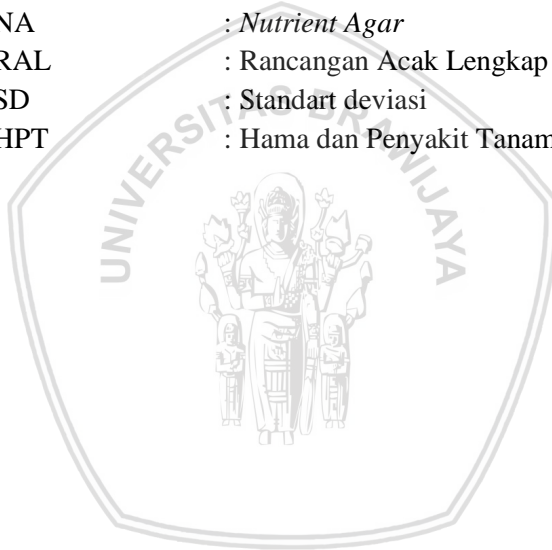
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur kerja penelitian.....	51
2. Pengukuran diamter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill.).....	52
3. Hasil analisis daya hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap bakteri <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> dan <i>Escherichia coli</i>	53
4. Pengertian dan prosedur <i>Mc Farland</i>	57
5. Dokumentasi Penelitian	58



DAFTAR SINGKATAN

1. ANOVA : *Analisis of Variance*
2. EKA : Ekstrak Kulit Apel
3. JK : Jumlah Kuadrat
4. KT : Kuadrat Tengah
5. μ l : Mikro liter
6. NA : *Nutrient Agar*
7. RAL : Rancangan Acak Lengkap
8. SD : Standart deviasi
9. HPT : Hama dan Penyakit Tanaman





BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan salah satu bahan pangan yang berasal dari hewan, kandungan yang berada dalam susu ini sangat baik dan dibutuhkan oleh anak sapi maupun manusia. Susu dapat mengandung berbagai macam mikroorganisme yang berasal dari lingkungan maupun tubuh sapi sendiri. Apabila ambing sapi dalam kondisi sehat maka susu yang dihasilkan mengandung mikroba yang baik untuk dikonsumsi manusia maupun anak sapi tersebut, namun jika ambing sapi tersebut sedang mengalami peradangan susu yang dihasilkan tidak layak untuk dikonsumsi. Menurut Wahyuni dan Budiarmo (2010) masalah utama dalam peternakan sapi perah adalah mastitis yang merupakan peradangan pada ambing. Terdapat 2 macam mastitis yakni mastitis subklinis dan mastitis klinis. Beberapa kerugian yang diakibatkan oleh mastitis menurut Leitner, Silanikove, dan Merin (2008) antara lain penurunan produksi susu sekitar 10-25%, kematian anak karena tidak mendapatkan kolostrum dan meningkatnya biaya pengobatan. Peradangan atau mastitis merupakan salah satu masalah utama peternak sapi perah, *streptococcus agalactiae* merupakan bakteri yang diwaspadai sebagai penyebab mastitis subklinis. Jika bakteri berkembang dalam susu yang dihasilkan oleh sapi yang terserang mastitis dan susu yang tercemar tanpa penanganan dikonsumsi manusia akan menyebabkan penyakit tonsilitis dan meningitis. Selain bakteri *streptococcus agalactiae* ada juga bakteri penyebab mastitis yaitu *escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri yang diwaspadai sebagai penyebab mastitis, *escherichia coli* diketahui telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. Pada saat dilakukan pencegahan dengan antibiotik menjadi tidak efektif, masa pengobatan menjadi lebih panjang, dan sapi menjadi tidak produktif. Wahyuni dan Budiarmo (2010), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* dan *Coliform* merupakan tiga bakteri utama yang sering menyebabkan mastitis subklinis.

Bakteri penyebab mastitis ini hanya dapat dicegah dengan menghambat pertumbuhannya. Salah satu cara pencegahan mastitis yakni dengan *teat dipping* menggunakan antibakteri kimia yaitu iodips. Namun disisi lain penggunaan antibakteri kimia secara berkepanjangan akan memunculkan berbagai masalah yaitu menimbulkan bakteri yang ada menjadi resisten/kebal, sehingga membutuhkan pengobatan dengan dengan dosis yang lebih tinggi daripada sebelumnya. Maka dari itu perlu adanya alternatif zat antibakteri alami pencegah mastitis yang berasal dari bahan-bahan herbal yang diperoleh dari keanekaragaman hayati Indonesia.

Jannata, Achmad, dan Tantin (2014) Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar

bagi manusia dalam hal pengobatan. Apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) selain populer dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan dan antiproliferasi kulit buah apel manalagi mengandung senyawa polifenol lebih banyak daripada daging buahnya. Kulit apel manalagi mengandung beberapa fitokimia, antara lain kuersetin, kateketin, phloridzin, dan asam klorogenik. Kulit apel juga sudah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *escherichia coli*, *staphylococcus aureus* dan *streptococcus agalactiae*.

Kulit apel yang digunakan sebagai antibakteri terlebih dahulu di ekstrak. Proses ekstraksi ini bertujuan untuk menarik senyawa aktif yang terkandung didalam kulit apel. Menurut Moersidi (2015) ekstrak kulit apel berpotensi sebagai sumber antioksidan dan kulit apel ini mempunyai kandungan antibakteri yang tinggi daripada daging buahnya. Selain itu banyak senyawa fitokimia yang sudah terdeteksi pada kulit apel kering dan ekstraksinya.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan larutan etanol karena etanol mampu mengeluarkan senyawa aktif yang ada dalam kulit apel manalagi. Dalam penelitian sebelumnya dengan dekok kulit apel manalagi menggunakan larutan aquades, senyawa aktif yang terkandung dalam kulit apel belum sepenuhnya keluar. Pada penelitian ini diharapkan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dapat diperoleh kandungan zat anti mikroba yang lebih besar dibandingkan dengan dekok kulit apel, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *streptococcus agalactiae* penyebab mastitis subklinis. Berdasarkan hasil penelitian Poeloengan (2009) aktifitas air perasan dan ekstrak etanol daun encok menunjukkan bahwa ekstrak daun encok menghasilkan zona hambat lebih besar terhadap bakteri *streptococcus agalactiae* dibandingkan dengan air perasan daun encok. Oleh karena itu, pengujian pengaruh antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap bakteri *streptococcus agalactiae* perlu dilakukan untuk mengetahui zona hambat pertumbuhan bakteri sebagai salah satu penyebab mastitis subklinis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dapat diambil rumusan masalah yaitu apakah lama waktu penyimpanan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dengan pelarut etanol pada suhu ruang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui lama simpan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dengan pelarut etanol yang disimpan pada suhu ruang sebagai larutan anti mikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah.

2. Untuk mengetahui efektifitas ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas khususnya pada peternak sapi perah sebagai inovasi baru mengenai penggunaan bahan herbal sebagai antiseptik alami untuk mencegah infeksi mastitis.
2. diharapkan dari penelitian ini ialah produk antiseptik dari ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) yang dapat dikembangkan sebagai usaha dalam skala yang lebih besar.

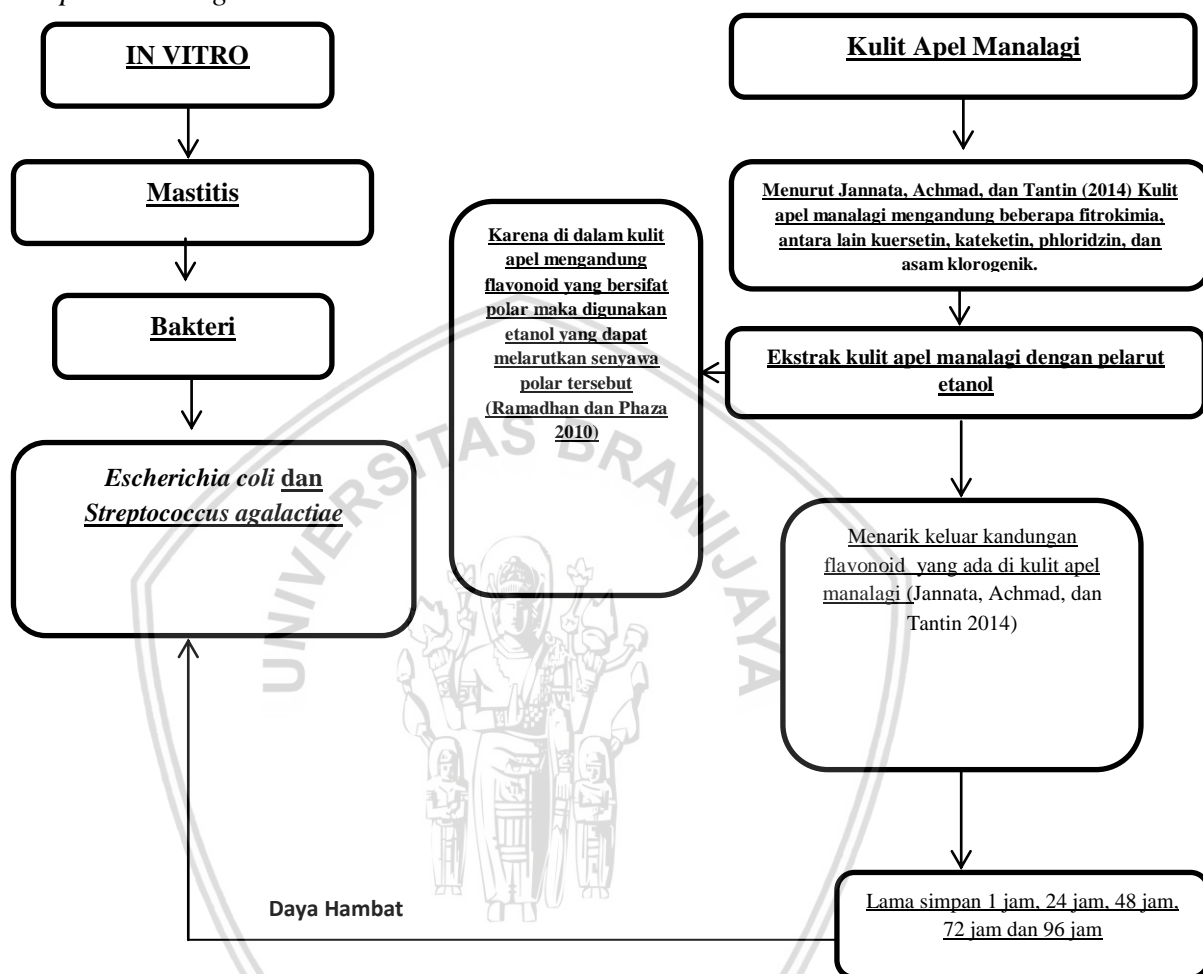
1.5 Kerangka Pikir

Mastitis membutuhkan suatu penanganan dan pengendalian yang tepat agar kerugian yang ditimbulkan dapat ditekan sehingga para peternak sapi perah tidak mengalami kerugian yang terus menerus. Akibat yang ditimbulkan dari penggunaan antibiotik dalam kasus mastitis mungkin tidak selalu tepat dan menimbulkan masalah baru yaitu adanya residu antibiotika dalam susu, alergi, resistensi serta mempengaruhi pengolahan susu.

Dalam hal ini penggunaan bahan-bahan alami dari tumbuhan yang dapat digunakan sebagai penanganan penyakit mastitis dianggap sangat penting untuk mengurangi resiko kerugian secara ekonomi dan kerugian akibat residu antibiotik dari pengobatan mastitis. Salah satu tanaman buah yang mempunyai limbah dan mengandung senyawa-senyawa antibakteri alami untuk mastitis ialah kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Menurut Jannata, Achmad, dan Tantin (2014), kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat antibakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigallol dan gugus galloil. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian. Beberapa mikroorganisme yang menyebabkan mastitis adalah *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, dan *Staphylococcus aureus* (Handayani, Tuasikal, dan Sugoro, 2006). Jenis bakteri lain yang dapat menyebabkan mastitis adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae*. Dengan pembuatan ekstrak kulit apel manalagi diharapkan dapat berfungsi sebagai larutan *teat dipping* karena dapat

menghambat pertumbuhan bakteri penyebab mastitis dan mengakibatkan bakteri menjadi lisis.

Sediaan ekstrak kulit apel manalagi yang dibuat disimpan untuk beberapa waktu, kemudian dilakukan pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae*.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.6 Hipotesis

- H0 : Lama simpan ekstrak kulit apel manalagi (*Malussylvestris* Mill.) tidak berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* penyebab mastitis pada sapi perah.
- H1 : Lama simpan ekstrak kulit apel manalagi (*Malussylvestris* Mill.) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* penyebab mastitis pada sapi perah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mastitis

Mastitis adalah suatu radang ambing yang disebabkan adanya infeksi mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Kondisi lingkungan yang buruk, mikroorganisme sebagai agen infeksi dan kondisi kesehatan sapi merupakan tiga faktor penyebab terjadinya mastitis (Sugoro, 2004). Mastitis merupakan peradangan yang bersifat kompleks dengan penyebab yang bervariasi, derajat keparahan, lama infeksi dan akibat infeksi yang beragam. Mastitis subklinis ialah mastitis yang tidak menunjukkan perubahan secara fisik pada puting dan susu yang dihasilkan menyebabkan penurunan kualitas dan produksi susu (Sudarwanto dan Sudarnika, 2008).

Sampai akhir tahun 2006, kasus mastitis terutama mastitis subklinis di Indonesia tercatat sekitar 75-83% (Sudarwanto, Latif, dan Noordin, 2006). Kejadian terbesar dari kasus mastitis yaitu mastitis subklinis dengan tingkat kejadian dapat mencapai 90% yang disertai dengan adanya penurunan produksi susu hingga mencapai 30% (Taylor and Field, 2004). Kasus mastitis subklinis memerlukan adanya pemeriksaan khusus terhadap susu karena kejadiannya banyak yang tidak diketahui oleh para peternak (Poeloengan, 2009).

Bakteri utama penyebab mastitis subklinis adalah *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus aureus*. *S.agalactiae* dan *S.aureus* mengandung hemagglutinin yang mempunyai kemampuan adesi pada sel epitel ambing jauh lebih besar daripada yang tidak mempunyai hemagglutinin. Hemagglutinin sendiri diduga merupakan faktor virulen yang penting (sebagai adesi) (Wahyuni, Wibawan, dan Wibowo, 2005).

2.2 Bakteri Mastitis

2.2.1 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang tidak membentuk spora yang merupakan flora normal di usus. Meskipun demikian beberapa jenis *Escherichia coli* dapat bersifat pathogen. Adanya bakteri *Escherichia coli* dalam air minum menunjukkan bahwa air minum tersebut pernah terkontaminasi kotoran manusia dan mungkin dapat mengandung patogen usus.

Klasifikasi Ilmiah *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Domain	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>
Morfologi	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli*
(Sumber : Carr, 2012)

Escherichia coli umumnya merupakan bakteri patogen yang banyak ditemukan pada saluran pencernaan manusia sebagai flora normal. Morfologi bakteri ini adalah kuman berbentuk batang pendek (*coccobasil*), gram negatif, ukuran $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1-3 \mu\text{m}$, sebagian besar gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul. Hasil isolasi dari susu mastitis klinis pada sapi perah laktasi di Sokoto Nigeria terdapat 9,78% cemaran bakteri *Escherichia coli* (Junaidu, *et al.*, 2011). Bakteri *Escherichia coli* secara normal berada di saluran pencernaan bagian bawah dan akan dapat berubah menjadi patogen jika perkembangan kuman di dalam tubuh yang melebihi batas normal, akibat perubahan makanan secara mendadak serta perubahan lingkungan dari panas ke hujan atau sebaliknya (Darsana, Besung dan Mahatmi, 2012).

2.2.2 Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Bakteri *Streptococcus agalactiae* masuk kedalam spesies *Streptococcus sp.* berbentuk bulat (coccus) dan rantai atau berpasangan. Spesies dari *Streptococcus sp.* merupakan bakteri non motil dan tidak membentuk spora dan sebagai bakteri yang termasuk kedalam kelompok bakteri gram positif anaerob (Virgihani, 2011). Semua spesies mampu memfermentasi glukosa dengan produk utama berupa asam laktat. *Streptococcus* merupakan bakteri yang dominan dalam menjangkit mastitis pada sapi perah (Wahyuni, dkk, 2005). Bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Streptococcus agalactiae* (sumber :

http://www.bacteriainphotos.com/Streptococcus_agalactiae_3D.html)

Menurut Virgihani (2011), resistensi bakteri *Streptococcus agalactiae* terhadap beberapa antibiotik menyebabkan pengobatan tidak efektif dan masa pengobatan menjadi lebih panjang serta ternak menjadi tidak produktif. *Streptococcus agalactiae* terkenal sebagai penyebab mastitis pada sapi, hewan lain seperti domba, kambing dan unta. Bakteri ini juga menyebabkan mastitis dan laminitis. Menurut Khadijah (2006), klasifikasi bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaeae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: Streptococcus agalactiae

Bakteri *S. agalactiae* memiliki antigen polisakarida yang sebagian besar tersusun dari asam sialat dan dinding selnya memiliki antigen protein dengan serotipe-X sebagai faktor virulensi imunogenik. Bakteri *S. agalactiae* memiliki kapsul yang tersusun dari asam sialat dan senyawa karbohidrat lainnya yang membentuk struktur oligosakarida. Kapsul ini sebagai salah satu faktor virulen dari *S. agalactiae* yang berperan dalam mencegah fagositosis, menentukan ketahanan hidup, mencegah serangan dari sel antiradang dan mencegah proses pembunuhan bakteri (Poeloengan, dkk, 2013).

2.3 Apel Manalagi (*Malussylvestris* Mill.)

Apel merupakan jenis buah yang dibudidayakan di berbagai iklim belahan dunia, dan saat ini tumbuh di berbagai negara dengan jumlah produksi total lebih dari 71 juta ton. Beberapa pendapat menjelaskan bahwa apel berasal dari pegunungan *Caucacus* di Asia Barat, dan masuk ke Indonesia pada tahun 1934 melalui proses yang panjang. Pada umumnya masyarakat mengkonsumsi apel dalam kondisi segar atau dikonsumsi secara langsung pasca panen dengan masa penyimpanan selama enam bulan atau lebih lama. Bahan pangan olahan yang

menggunakan bahan baku apel adalah jus, saus, cuka, dan sari buah apel. Di Indonesia sendiri terdapat beberapa jenis apel domestic, salah satunya adalah jenis apel Malang. Apel Malang ini juga terdiri dari beberapa jenis yaitu apel manalagi, *Rome Beauty*, dan *Princes Noble*. Pada apel Malang ini terdapat berbagai macam kandungan vitamin yang diantaranya adalah vitamin A, B, dan C, serta mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, klor, magnesium, natrium, potassium, dan silicon. Apel manalagi merupakan salah satu jenis apel yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Apel ini memiliki rasa yang manis, enak, mudah ditemui, dan harganya cukup terjangkau untuk semua kalangan. Kelebihan dari buah apel manalagi ini adalah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena apel ini memiliki kandungan zat yang bersifat antimikroba. Zat tersebut adalah berupa polifenol, flavonoid, saponin, pectin, dan yodium. Selain memiliki fungsi sebagai antimikroba juga dapat berfungsi sebagai antifungi. (Moersidi, 2015).

Klasifikasi apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) berdasarkan taksonominya dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisio	: <i>Angiospermae</i>
Klas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Rosales</i>
Famili	: <i>Rosaceae</i>
Genus	: <i>Malus</i>
Spesies	: <i>Malus sylvestris</i> Mill..

(sumber : <http://www.warintek.ristek.go.id/pertanian/apel.pdf>)



Gambar 4. Apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) (sumber : https://en.wikipedia.org/wiki/Malus_sylvestris)

2.3.1 Kandungan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Apel selain populer dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Kulit apel bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan dan antiproliferasi. Kulit buah apel mengandung senyawa polifenol lebih banyak

daripada daging buahnya. Ekstrak kulit apel juga telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat anti bakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigallol dan gugus galloil. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian. Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid. Aktivitas antibakteri kuersetin mengikat sub unit GyrB DNA girase dan menghambat aktivitas enzim ATPase. Kuersetin juga secara signifikan menghambat motilitas bakteri. *Phloridzin* termasuk dalam kelompok *dihydrochalcone*, sejenis flavonoid. Flavonoid merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alcohol pada senyawa flavonoid, sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Asam klorogenik juga mempunyai sifat antibakteri. Asam klorogenik menghambat enzim tertentu yang terlibat dalam sintesis asam lemak bakteri. Asam klorogenik juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membrane plasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran isi sitoplasma termasuk nukleotida (Jannata, dkk, 2014).

2.4 Ekstraksi dan Pelarut

Ekstraksi adalah penyaringan zat-zat aktif dari bagian tanaman obat. Adapun tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Dinda, 2008).

Menurut Emilan, dkk (2011) pada prinsipnya ekstraksi adalah melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat. Ada tiga tahapan proses pada waktu ekstraksi yaitu:

1. Penetrasi pelarut kedalam sel tanaman dan pengembangan sel
2. Disolusi pelarut ke dalam sel tanaman dan pengembangan sel
3. Difusi bahan yang terekstraksi ke luar sel Proses diatas diharapkan terjadinya kesetimbangan antara linarut dan pelarut. Kecepatan untuk mencapai kesetimbangan umumnya tergantung pada suhu, pH, ukuran

partikel dan gerakan partikel. Prinsip yang utama adalah yang berkaitan dengan kelarutan, yaitu senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut nonpolar.

Prinsip ekstraksi menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak dikontakkan langsung dengan pelarut selama selang waktu tertentu sehingga komponen yang akan diekstrak terlarut dalam pelarut kemudian diikuti dengan pemisahan pelarut dari bahan yang telah diekstrak (Nuraini, 2007). Didukung menurut Zhang, et al, (2009) ekstraksi dengan pelarut pada sampel kering meliputi dua proses, yaitu kontak sampel dengan pelarut dan hidrasi serta transfer massa komponen terlarut dari sampel ke pelarut.

Metode maserasi ialah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur suhu kamar. Keuntungan menggunakan metode maserasi yakni prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alami tidak terurai (anonymous, 2000).

Etanol adalah senyawa dengan sifat polar dan semi polar maksudnya adalah dapat berfungsi sebagai pelarut air dan minyak (Nahak, 2012). Ramadhan dan Phaza (2010) menambahkan bahwa etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat, dan senyawa organik lainnya. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut, yaitu sifat pelarut (selektivitas, koefisien, densitas, tegangan antar permukaan, kemudahan pengambilan kembali pelarut serta keaktifan) dan jumlah pelarut yang digunakan, semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan semakin banyak pula jumlah produk yang akan diperoleh.

2.5 Lama Simpan Ekstrak

Penyimpanan pada suhu tinggi menyebabkan turunnya beberapa bahan kimia pada tanaman terutama terpenoid dan flavonoid. Penyimpanan pada suhu tinggi menyebabkan kandungan ekstrak terutama flavonoid mengalami penurunan (Klimczak, et al, 2006). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Eveline, dkk (2014), kandungan flavonoid mengalami penurunan signifikan pada hari ke-12, namun telah dimulai sejak hari ke-6 selama penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh adanya proses oksidasi flavonoid oleh oksigen dapat menurunkan jumlah flavonoid selama penyimpanan. Ditambahkan oleh Siswadi (2002) bahwa penurunan efektivitas senyawa antimikrobia ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, jumlah komponen yang ada dan faktor- faktor lainnya.

Suhartatik, dkk, (2013) menyatakan bahwa terjadi penurunan kadar flavonoid yang signifikan selama proses penyimpanan ekstrak yang mengandung flavonoid (antosianin pada buah), baik yang disimpan pada suhu dingin maupun suhu kamar terutama pada perlakuan penyimpanan suhu kamar pada pH netral (7,0). Sedangkan untuk perlakuan yang disimpan pada pH 6,0 (suhu kamar), perubahan antosianin pada penyimpanan hari pertama tidak signifikan terhadap penyimpanan hari ke-3. Penyimpanan pada suhu kamar dapat menyebabkan kerusakan pada flavonoid yang disebabkan oleh sinar UV dan oksidasi.



BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 25 April 2016 sampai 20 Juni 2016. Lokasi penelitian dilakukan :

- a. Di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Pada laboratorium ini di lakukan Ekstraksi kulit apel manalagi dengan menggunakan pelarut etanol.
- b. Di Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Pada tahap ini dilakukan penanaman, pembiakan, pengujian daya hambat serta lama penyimpanan ekstrak kulit apel dengan etanol.

3.2 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah:

1. Limbah kulit apel yang di peroleh dari home industri keripik apel yang berlokasi di Kecamatan Bumi Aji, Kota Batu, Jawa Timur.
2. Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*. Bakteri yang digunakan merupakan biakan Laboratorium Bakteriologi HPT (Hama dan Penyakit Tanaman) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang sedangkan pelarut etanol yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Teknik Kimia UIN Malang.
3. Pelarut etanol yang diperoleh dari Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang akan dilakukan yaitu percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) searah dengan ketentuan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini yakni lama simpan pada konsentrasi ekstrak kulit apel 50% dengan menggunakan pelarut etanol. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. P0 = Penyimpanan pada 1 jam (Perlakuan kontrol)
2. P1 = Penyimpanan selama 24 jam
3. P2 = Penyimpanan selama 48 jam
4. P3 = Penyimpanan selama 72 jam
5. P4 = Penyimpanan selama 96 jam

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1. Prosedur Ekstraksi Kulit Apel Manalagi

Proses ekstraksi kulit apel dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Proses ekstraksi dilakukan Laboratorium Kimia pada Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Menurut Nurdin, Titin dan Zackiyah (2010) proses ekstraksi dengan metode maserasi ialah sebagai berikut :

1. Di angin-anginkan kulit apel yang masih segar.
2. Dimasukan kulit apel ke dalam oven dengan suhu 60° C selama 24 jam.
3. Dihaluskan kulit apel dengan mesin grinding sampai halus.
4. Ditimbang serbuk kulit apel sebanyak 100 g.
5. Dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer.
6. Dituangkan etanol sebanyak 0,5 liter kedalam Erlenmeyer.
7. Direndam bahan dan didiamkan pada suhu kamar selama 2x24 jam.
8. Disaring rendemen kulit apel dengan kertas saring.
9. Dilakukan proses evaporasi untuk memisahkan larutan etanol dengan zat-zat aktif yang ada di dalam ekstrak.
10. Dipekatkan rendemen hasil penyaringan dengan *rotary evaporator*, pada temperatur 65-70° C selama 2 jam.

3.4.2 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Kulit Apel Manalagi 50%

Menurut Achmad dan Ido (2009) konsentrasi ekstrak 50% didapat dengan cara sebagai berikut:

$$EKA = \frac{e}{e+a} \times 100\%$$

Keterangan:

EKA = Ekstrak kulit apel(%)

e = Volume ekstrak kulit apel yang diperoleh dari hasil ekstraksi

a = Etanol (Pelarut) yang ditambahkan

e + a = Volume total antara ekstrak kulit apel dan Etanol, dengan total 10 ml.

3.4.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Menurut Prawira, dkk (2013), pembuatan media NA ialah sebagai berikut:

1. Ditimbang kurang lebih 2,8 gram agar nutrient.
2. Dimasukkan kedalam gelas kimia 250 ml.
3. Ditambahkan aquadest 500 ml, kemudian dihomogenkan.
4. Disterilisasi di autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.
5. Dituang di cawan petri dan dibiarkan hingga dingin dan membentuk gel.

3.4.4 Uji Daya Hambat Bakteri

Uji daya hambat bakteri menggunakan metode Kirby-Bauer (*Disk Diffusion Method*) dengan teknik sumur (*Hole* atau *Well*) sebagai berikut:

1. Bakteri aktif sebanyak 100 μl dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml diambil menggunakan mikropipet, dimasukkan kedalam cawan petri yang telah dibuat media agar.
2. Suspensi bakteri (sesuai dengan standart Mc Farland) dihomogenkan dan diratakan menggunakan glass L hingga memadat.
3. Didiamkan selama 4-5 menit.
4. Media yang telah bercampur dengan bakteri dilubangi menggunakan *cork borer* dengan diameter lubang 5 mm.
5. Ekstrak kulit apel dimasukkan ke lubang sumuran menggunakan *micro pipet* sebanyak 50 μl .
6. Cawan petri dibungkus menggunakan plastik *wrap* lalu didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam.
7. Zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran diamati dan diukur menggunakan jangka sorong sesuai dengan kategori zona hambat.

3.4.5 Pengukuran Diameter Zona Hambat

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah besarnya diameter zona hambat yang terbentuk akibat pengaruh ekstrak kulit apel manalagi menggunakan pelarut etanol. Zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran menunjukkan terdapat aktivitas senyawa antibakteri. Susanto, dkk, (2012) kategori zona hambat dikategorikan sesuai kemampuan menghambat bakteri, kemampuan menghambat bakteri dengan kategori lemah diameter zona hambat bekisar ≤ 5 mm, kategori sedang diameter zona hambat sekitar 6-10 mm, kategori kuat diameter zona hambat 10-20 mm dan kategori sangat kuat diameter zona hambat ≥ 21 mm.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah zona hambat ekstrak kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae*.

3.6 Analisis Data

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis ragam dimana terdapat 5 perlakuan serta 5 ulangan. Pemilihan metode RAL searah ini dikarenakan berasal dari perlakuan saja selain itu jumlah pengulangan serta perlakuan tidak saling berhubungan. Apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

3.7 Batasan Istilah

1. Mastitis : Peradangan pada jaringan ambing yang biasanya disebabkan oleh infeksi bakteri yang dapat masuk melalui lubang puting yang masih terbuka setelah dilakukan pemerahan.
2. Antimikroba : Zat yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme.
3. Ekstraksi : Proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik.
4. Zona hambat : Suatu zona yang menunjukkan kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) diperoleh dari industri pengolahan apel di Kota Batu. Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dikeringkan dengan *oven* dan dihaluskan menggunakan mesin *grinder* kemudian ditimbang sebanyak 100 g untuk dilakukan proses ekstraksi. Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi di masukkan ke dalam 5 botol penyimpanan untuk dilakukan perlakuan. Menurut Jannata, Achmad, dan Tantin, (2014) Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar bagi manusia dalam hal pengobatan. Apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) selain populer dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan.

Kulit apel bermanfaat sebagai antibakteri dan antioksidan. Kulit buah apel mengandung senyawa polifenol lebih banyak daripada daging buahnya. Ekstrak kulit apel juga telah diteliti oleh Boyer dan Liu (2004) dalam Jannata, dkk., (2014) kulit apel memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat antibakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrogallol dan gugus galloil.

Proses ekstraksi Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) yaitu menggunakan metode maserasi atau disebut juga metode ekstraksi dingin. Metode maserasi dipilih karena metode ini murah, mudah dilakukan dan sederhana. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi sama sekali tidak menggunakan proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Metode maserasi dipilih dengan tujuan agar senyawa yang terkandung dalam simplisia Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) tidak menjadi rusak. Karena dalam Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terkandung beberapa senyawa aktif yang mudah rusak jika terkena proses pemanasan. Menurut Ansel (1989) dalam Daud, dkk., (2011) maserasi adalah proses penyarian dengan cara perendaman serbuk dalam air atau pelarut organik sampai meresap yang akan melunakkan susunan sel, sehingga zat – zat yang terkandung didalamnya akan terlarut.

Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Etanol adalah pelarut yang tidak berwarna (bening) akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, karena adanya perbedaan konsentrasi

antara larutan zat aktif didalam sel dengan diluar sel, maka larutan yang terpekat dipaksa keluar. Etanol dipilih sebagai pelarut polar karena memiliki kemampuan dalam mengikat senyawa aktif yang terkandung dalam kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Etanol yang digunakan ialah etanol 96% p.a (pure analysis) dikarenakan etanol yang memiliki kandungan tersebut memiliki kemurnian lebih tinggi dibandingkan yang meliki kandungan p.t (pure teknis), sehingga senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) menggunakan pelarut etanol 96% p.a lebih banyak yang terekstrak. Mintowati, dkk., (2013) aktifitas antioksidan yang tinggi dihasilkan oleh pelarut ekstrak yang bersifat polar. Ramadhan dan Phaza (2010) menambahkan bahwa etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat, dan senyawa organik lainnya dibandingkan jenis pelarut organik yang lain.

4.2 Uji Daya Hambat Bakteri *streptococcus agalactiae*.

Kemampuan suatu antibakteri ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol dapat diukur dengan menghitung kemampuan zona hambat terhadap bakteri. Kepadatan bakteri diukur sesuai standart prosedur *Mc Farland* yang disajikan pada Lampiran 4. Selain itu lama penyimpanan ekstrak etanol kulit apel manalagi juga dapat mempengaruhi diameter zona hambat. Uji daya hambat dilakukan dengan pengamatan zona bening setiap 24 jam. Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Sreptococcus agalactiae* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap bakteri *streptococcus agalactiae*

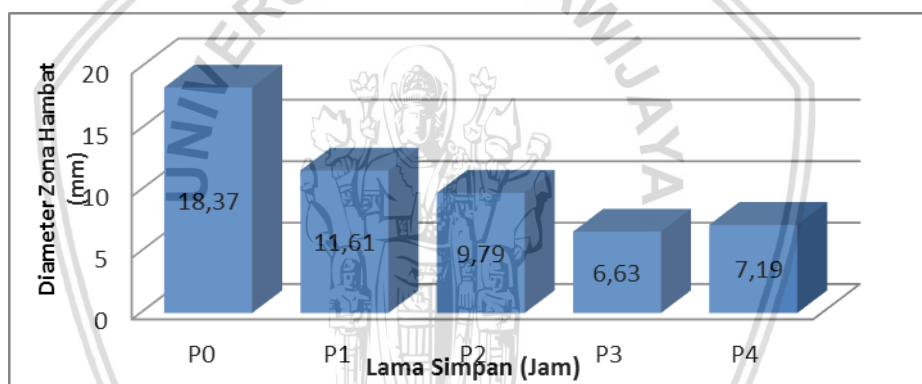
Perlakuan	Ulangan (mm)					Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3	4	5		
P ₀ Kontrol	19,55	18,6	18,03	17,9	17,8	91,88	18,37 ± 0,725 ^c
P ₁ Jam ke 24	11,35	10,35	11,45	13,75	11,15	58,05	11,61 ± 1,272 ^b
P ₂ Jam ke 48	12,05	8,75	8,2	8,55	11,4	48,95	9,79 ± 1,792 ^b
P ₃ Jam ke 72	5,55	6,95	7,25	6,9	6,5	33,15	6,63 ± 0,660 ^a
P ₄ Jam ke 96	7,3	5,54	7,9	7,3	7,95	35,99	7,19 ± 0,978 ^a
Total						268,02	

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Hasil zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran merupakan adanya aktifitas ekstrak etanol kulit apel manalagi dalam menghambat bakteri oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit apel manalagi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat dari Nisaa' dan Darsono (2011) zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran menunjukkan terdapat aktivitas senyawa aktifitas senyawa antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Diameter zona hambat pada bakteri *streptococcus agalactiae* dapat di lihat pada lampiran 5. Hasil tersebut sesuai dengan hipotesis yang di duga bahwa lama penyimpanan ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol mempengaruhi daya hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah. Tabel 1 menunjukkan semakin lama ekstrak kulit Apel Manalagi disimpan, maka daya hambat yang dihasilkan juga semakin menurun. Hal ini disebabkan karena adanya penurunan aktivitas antioksidan didalam ekstrak kulit Apel Manalagi selama mengalami penyimpanan. Hal ini sesuai dengan pendapat Siswadi (2002) bahwa penurunan efektivitas senyawa antimikrobia ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, jumlah komponen yang ada dan faktor- faktor lainnya.

Persentase diameter hasil uji daya hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diameter zona hambat ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Gambar 5. menunjukkan bahwa semakin lama ekstrak etanol kulit apel manalagi disimpan, maka diameter zona hambat yang dihasilkan semakin menurun. Hal ini terjadi karena terjadinya penurunan kandungan antioksidan yang terdapat pada ekstrak kulit apel manalagi selama penyimpanan. Hasil tersebut dapat dikategorikan kuat kemampuan daya hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Hal ini sesuai dengan pendapat dari dengan Susanto, dkk (2012) bahwa kemampuan menghambat bakteri dengan kategori lemah diameter zona hambat bekisar ≤ 5 mm, kategori sedang diameter zona hambat sekitar 6-10 mm, kategori kuat diameter zona hambat 10-20 mm dan kategori sangat kuat dengan diameter zona hambat ≥ 21 mm. Ditambahkan oleh Poeloengan (2009) bahwa *Streptococcus agalactiae* memiliki dinding yang terdiri dari 50% lapisan peptidoglikan dan memiliki susunan dinding yang kompak. Dinding inilah yang menyebabkan *Streptococcus agalactiae* bersifat sangat toleran terhadap senyawa antibakteri.

4.3 Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Efektivitas suatu antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi dapat diukur dengan menghitung kemampuan zona hambat terhadap bakteri. Selain itu lama penyimpanan ekstrak etanol kulit apel manalagi juga dapat mempengaruhi diameter zona hambat dari hari ke hari. Zona bening yang terbentuk pada media pertumbuhan bakteri menandakan adanya reaksi zat antibakteri dari ekstrak etanol kulit apel manalagi. Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap bakteri *Escherichia coli*.

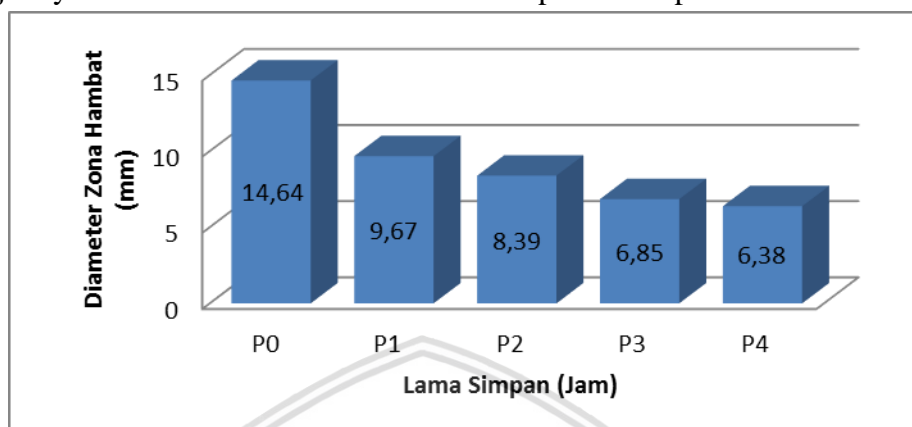
Perlakuan	Ulangan (mm)					Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3	4	5		
P ₀ Kontrol	14	15,4	14,3	14,6	14,9	73,2	14,64 ± 0,541 ^c
P ₁ Jam ke 24	9,65	10	9,4	9,5	9,8	48,35	9,67 ± 0,238 ^b
P ₂ Jam ke 48	8,2	8,55	8,9	8,4	7,9	41,95	8,39 ± 0,374 ^b
P ₃ Jam ke 72	6,65	6,8	6,7	7	7,1	34,25	6,85 ± 0,193 ^a
P ₄ Jam ke 96	6,4	6,3	6,4	6,9	5,9	31,9	6,38 ± 0,356 ^a
Total						229,65	

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Hasil zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran merupakan adanya aktifitas zat antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit apel manalagi yang menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pendapat dari Darmayasa (2008) bahwa pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan.

Rata – rata diameter zona bening yang terbentuk oleh ekstrak etanol kulit apel manalagi dengan konsentrasi 50 % pada perlakuan jam ke - 1 sampai jam ke 96 yang disimpan pada suhu ruang berpengaruh sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan kemudahan analisisnya dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Tabel 2 menunjukkan bahwa P₀ (1 jam) memiliki diameter zona hambat bakteri paling besar dibandingkan yang lainnya yang menandakan kemampuan ekstrak etanol kulit apel manalagi pada P₀ (1 jam) memiliki kemampuan daya hambat yang paling baik. Menurunnya kemampuan ekstrak dikarenakan waktu simpan yang lebih lama yang menyebabkan kandungan zat antibakteri dalam ekstrak mengalami oksidasi, selain waktu simpan yang lama menurunnya aktifitas zat anti bakteri pada ekstrak kulit apel manalagi juga dipengaruhi suhu lingkungan dimana ekstrak tersebut disimpan, karena suhu yang tinggi akan menyebabkan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak teroksidasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Siswadi (2002) bahwa penurunan efektivitas senyawa antimikrobia ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain

jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, jumlah komponen yang ada dan faktor- faktor lainnya. Persentase hasil uji daya hambat bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diameter zona hambat ekstrak kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* lebih kecil dibandingkan zona hambat yang terbentuk pada uji daya hambat bakteri *streptococcus agalactiae*. Hal ini disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* tergolong jenis bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel lebih kompleks. Menurut Persson, et al (2011) *Escherichia coli* adalah bakteri yang diwaspadai mempunyai peranan sebagai salah satu penyebab mastitis subklinis pada sapi perah (4,8%) dan merupakan hambatan utama dalam peningkatan produksi susu. Eni, dkk (2009) menambahkan bahwa bakteri *Escherichia coli* mempunyai ketahanan yang baik terhadap senyawa antibakteri sehingga respon hambat bakteri *Escherichia coli* lemah.

4.4 Pengaruh Lama Penyimpanan Kulit Apel Manalagi Dengan Pelarut Etanol Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*

Lama proses penyimpanan ekstrak etanol kulit apel manalagi dilakukan untuk mengetahui seberapa efektif ekstrak etanol kulit apel sebagai antibakteri terhadap menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* penyebab mastitis. Uji daya hambat antibakteri dilakukan sebelum dan setelah proses penyimpanan dilakukan, hal itu untuk mengetahui seberapa besar efektifitas dari ekstrak etanol kulit apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin besar nilai zona hambat yang terbentuk dengan konsentrasi ekstrak yang ditentukan disebabkan oleh banyaknya kandungan senyawa – senyawa aktif yang terekstrak pada ekstrak etanol kulit apel manalagi seperti flavonoid, dan tanin yang terkandung sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pendapat

dari Darmayasa (2008) bahwa pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan. Faktor lama penyimpanan ekstrak dan suhu penyimpanan sangat berpengaruh terhadap proses daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan selama proses penyimpanan berlangsung, senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit apel manalagi seperti flavonoid dan tanin mengalami oksidasi sehingga menyebabkan keefektifan dari senyawa – senyawa aktif tersebut dalam menghambat bakteri menjadi berkurang. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Rein (2005) bahwa selama proses penyimpanan ekstrak yang mengandung flavonoid (antosinin pada buah), baik itu disimpan pada suhu dingin ataupun suhu kamar, terjadi penurunan kadar antosianin yang signifikan. Stabilitas antosianin atau flavonoid pada tanaman tidak hanya dipengaruhi oleh suhu pemanasan pada proses pengolahan saja, namun juga dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik dalam produk, seperti pH, suhu penyimpanan, struktur kimia dan konsentrasi antosianin yang ada. Rata - rata hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk dari penelitian yang dilakukan selama proses penyimpanan pada suhu ruang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* selama penyimpanan pada suhu ruang

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i>
P ₀ Jam ke 1(kontrol)	18,37 ± 0,725 ^c	14,64 ± 0,541 ^c
P ₁ Jam ke 24	11,61 ± 1,272 ^b	9,67 ± 0,238 ^b
P ₂ Jam ke 48	9,79 ± 1,792 ^b	8,39 ± 0,374 ^b
P ₃ Jam ke 72	6,63 ± 0,660 ^a	6,85 ± 0,193 ^a
P ₄ Jam ke 96	7,19 ± 0,978 ^a	6,38 ± 0,356 ^a

Keterangan : *Satuan yang digunakan (mm)

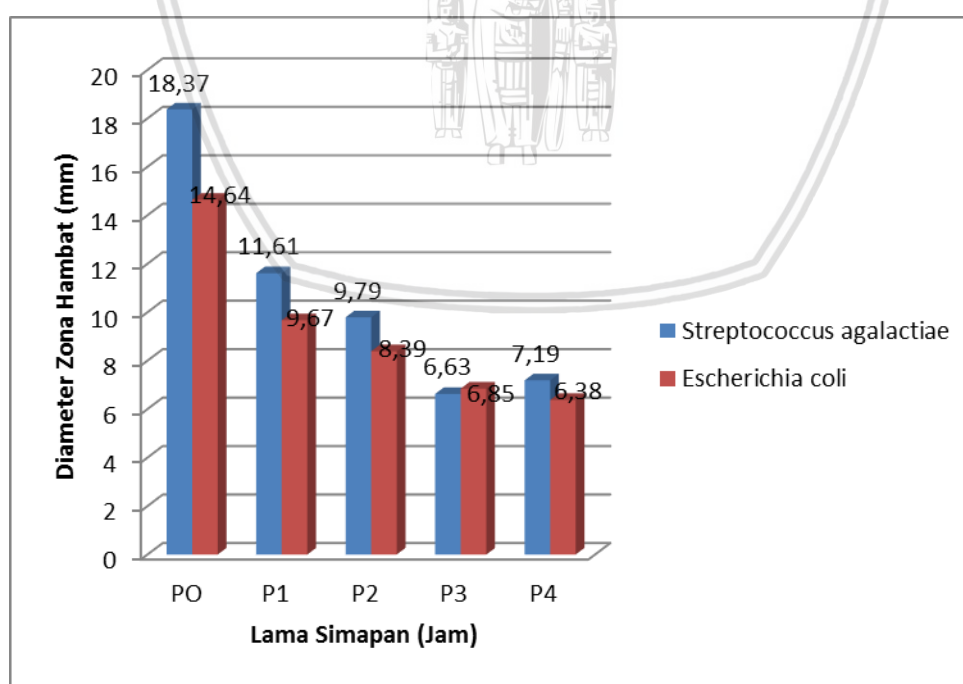
*Superskrip yang berbeda (a-d) pada kolom diatas menunjukkan hasil yang sangat nyata (P<0,01)

Hasil pengamatan pada Tabel 3. menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi selama proses penyimpanan hingga hari terakhir perlakuan pengamatan mengalami penurunan. Hasil dari penelitian tersebut dapat dilihat zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Streptococcus agalactiae* lebih besar di bandingkan zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli*, hal tersebut dipengaruhi oleh perbedaan sensitifitas pada bakteri karena bakteri gram positif dan gram negatif memiliki ketahanan terhadap zat antibakteri yang masing – masing berbeda. Menurut Siswadi (2002) penurunan efektivitas senyawa antimikrobia ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis, umur dan keadaan mikroba, konsentrasi zat antimikroba, suhu dan waktu kontak, serta sifat

fisiokimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan, jumlah komponen yang ada dan faktor- faktor lainnya.

Mekanisme ekstrak etanol kulit apel manalagi sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak dinding sel bakteri sehingga permeabilitasnya terganggu dan akhirnya mati. Dinding sel bakteri merupakan lapisan yang tebal sehingga pada saat terdapat guncangan dari luar maka dinding sel tetap kuat melindungi komponen yang terdapat didalamnya.

Semakin lama ekstrak kulit apel manalagi disimpan maka kemampuan daya hambat bakteri yang dihasilkan juga semakin menurun. Hal ini dikarenakan senyawa aktif yang terkandung didalamnya juga mengalami penurunan. Salah satu senyawa aktif yang mengalami oksidasi selama proses penurunan yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat berefek sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Senyawa flavonoid yang ada dalam kulit apel manalagi merupakan senyawa yang bersifat polar, hal ini menyebabkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri (Lathifah, 2008). Al-Zubaydi *et al*, (2009) flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yang luas karena kemampuan yang kompleks dengan ekstraseluler dan protein larut serta untuk mengendapkan protein pada dinding sel bakteri. Selain itu menurut Suhartatik dkk., (2012) bahwa selama proses penyimpanan ekstrak yang mengandung flavonoid (antosianin pada buah), baik itu disimpan pada suhu dingin ataupun suhu kamar terjadi penurunan kadar flavonoid yang signifikan.



Gambar 7. Zona hambat ekstrak kulit apel manalagi dengan pelarut etanol terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*.

Gambar 7 menunjukkan bahwa selama penyimpanan, ekstrak kulit apel manalagi mengalami penurunan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu kandungan kulit apel manalagi yang turun selama penyimpanan yakni flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kandungan ekstrak yang memiliki peran paling banyak dalam menghambat bakteri. Lathifah (2008) menambahkan bahwa flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat berefek sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Senyawa flavonoid yang ada dalam kulit apel manalagi merupakan senyawa yang bersifat polar, hal ini menyebabkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri.





BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

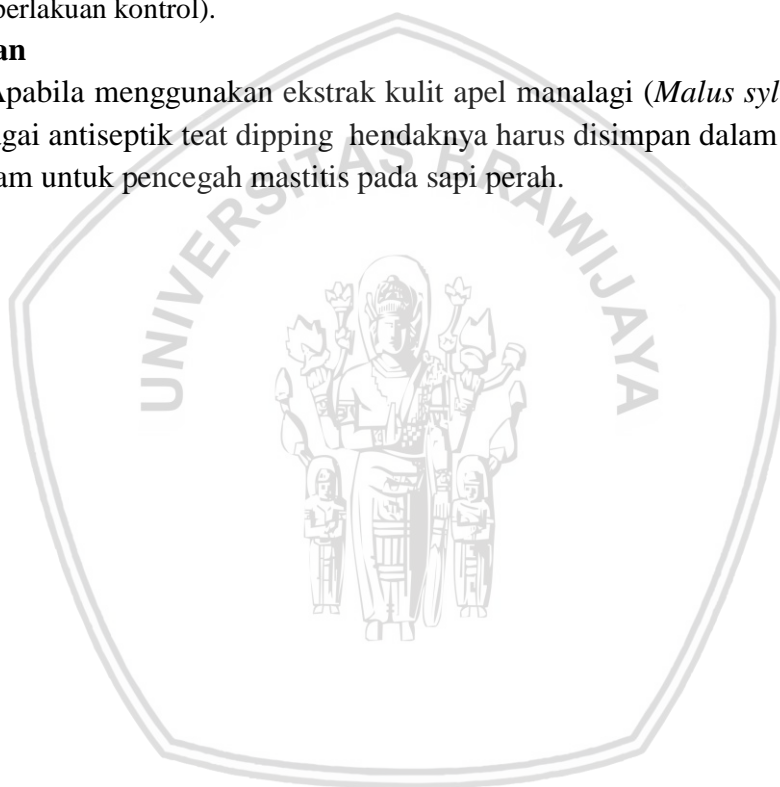
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan efektifitas lama simpan ekstrak etanol kulit apel manalagi (*malussylvestris* Mill.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*.
2. Ekstrak etanol kulit apel manalagi (*malussylvestris* Mill.) efektif digunakan sampai 24 jam penyimpanan karena memiliki kemampuan daya hambat yang hampir sama dengan ekstrak etanol kulit apel manalagi tanpa penyimpanan (perlakuan kontrol).

5.2 Saran

Apabila menggunakan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) sebagai antiseptik teat dipping hendaknya harus disimpan dalam kurun waktu 24 jam untuk pencegah mastitis pada sapi perah.





DAFTAR PUSTAKA

- Achmad dan Ido Suryana.2009. Pengujian Aktivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piperbetle* Linn.) Terhadap *Rhizoctonia* sp. Secara *In Vitro*. Vol. 20(1) 92 – 98.
- Al-Zubaydi, Sami R., Al- Hmdany, Maetham A., and Shyma'a J. Raesan. 2009. Antibacterial Effect Of Some Medicinal Plant Extracts Against Some Pathogenic Bacterial Strains. The 2nd Kurdistan Conference on Biological Sciences J. Duhok Univ.: 12, 244-249.
- Carr, J. H., 2012. Bacteria under microscope. <http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope.html>. Diakses tanggal 4 Desember 2017.
- Darmayasa, I.B.C. 2008. Daya Hambat Fraksinasi Ekstrak Sembung Delan (*Sphaerantus indicus* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biologi XI (2) : 74-77.
- Darsana. I.G.O., Besung. I.N.K., dan Mahatmi. H., 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. Indonesia Medicus Veterinus. ISSN : 2301-7848. 1(3) : 337 – 351.
- Departemen kesehatan RI. 2000. Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Direktorat Jendral POM – Depkes RI
- Dinda. 2008. Ekstraksi. <http://medicafarma.com/2008/11/ekstraksi.html>. Diakses Tanggal 25 Mei 2015.
- Emilan, T., Kurnia A., Utami, B., Diyani, L.N., dan Maulana A. 2011. Konsep Herbal Indonesia : Pemastian Mutu Produk Herbal. Thesis. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Farmasi Program Studi Magister Ilmu Herbal Depok. Depok.
- Eni P., W.N.H Setyo dan R. Rusdin. 2009. Respon hambatan bakteri gram positif dan negatif pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diawetkan dengan ekstrak jahe (*Zingerber officinale*). Jurnal Kesehatan 2 (1) : 61-70.
- Eveline, S., Tagor, M., dan Sanny. 2014. Studi Aktivitas Antioksidan Pada Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Konvensional Dan Organik Selama Penyimpanan. Prosiding SNST ke-5 Tahun 2014.

- Handayani, Tuasikal dan Sugoro. 2006. LD₅₀ Sinarr Gama Pada *Streptococcus agalactiae* Untuk Bahan Vaksinasi Iradiasi Mastitis Pada Sapi Perah. Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi. BATAN.
- Jannata, Achmad dan Tantin. 2014. Daya aAntibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan. Vol. 2. No. 1.
- Junaidu A.U., Salihu M.D., Tambuwala F.M., Magaji A.A. and Jaafaru S. (2011). Prevalence of Mastitis in Lactating Cows in some selected Commercial Dairy Farms in Sokoto Metropolis. *Advances in Applied Science* 2 (2): 290-294.
- Khasanah, I., Sarwiyono., dan Surjowardojo, P. 2014. Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. *J. Ternak Tropika* Vol.15 No.2: 7-14.
- Khadijah, S. 2006. Pertumbuhan *Streptococcus agalactiae* Sebagai Bakteri Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Klimczak, I., Maecka, M., Szlachta, M., Gliszczyn, A. 2006. Effect of Storage on The ContentOf Polyphenols, Vitamin C and The Antioxidant Activity of Orange Juices. Faculty of Commodity Science, The Poznan´ University of Economics, Al.Niepodlegosci: 10, 60-967, Poznan´, Poland.
- Lathifah, Q.A. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Variasi Pelarut. Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
- Leitner G., Silanikove N., and Merin U. 2008. Estimate of Milk and Curd Yield Loss of Sheep and Goats With Intramammary Infection and its Relation to Somatic Cell Count. *Small Rumin Res.* 74:221-225.
- Mintowati, E., Kuntorini, Setya dan Maria. 2013. Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat. FMIPA Universitas Lampung.

- Moersidi, S. 2015. Daya Hambat Minimal Ekstrak Kulit Ael Manalagi Terhadap Pertumbuhan *Candida albican*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Nahak. M.M., 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica. L.*) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Skripsi. Program Pascasarjana Universitas Udayana Bali. Bali.
- Nuraini, A.D. 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri Dan Antioksidan Dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). Skripsi. Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Persson Y., A.K.J. Nyman and U.G. Andersson. 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden . Acta Veterinaria Scandinavica. Sweden.
- Poeloengan, M. 2009. Aktivitas Air Perasan dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2009.
- Poeloengan, Masniari dan Andriani. 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. Jurnal Veteriner Juni 2013. Vol. 14(2): 145-152.
- Pramesti, N. 2014. Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya L*) Sebagai Anti Bakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Program Studi Pendidikan Kedokteran. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Prawira. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah. [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ramadhan A.E, dan Phaza H A. 2010. Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu Dan Jumlah Stage Pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale* Rosc) Secara Batch. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rein. M., 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki, Helsinki.

- Siswadi, I. 2002. Mempelajari Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium D.C*) terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Sudarwanto M., H Latif., and M Noordin. 2006. The Relationship of The Somatic Cell Counting to Sub-clinical Mastitis and to Improve Milk Quality. Jakarta, July 12-13.
- Sudarwanto M., dan Sudarnika E. 2008. Hubungan pH Susu dengan Jumlah Sel Somatik Sebagai Parameter Mastitis Subklinis. Media Peternakan, Agustus 2008, hlm. 107-113 ISSN 0126-0472.
- Sugoro, I. 2004. Pengontrolan Penyakit Mastitis dan Manajemen Sapi Pemerahan Susu. Artikel PATIR-BATAN, Jakarta.
- Suhartatik, N., Karyantina, M., Mustofa, A., Cahyanto, M. N., Raharjo, S., dan Rahayu, E. S. 2013. Stabilitas Ekstrak Antosianin Beras Ketan (*Oryza sativa* var. glutinosa) Hitam Selama Proses Pemanasan dan Penyimpanan. Jurnal Agritech, Vol. 33(4).
- Susanto D., Sudrajat dan Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. 11(2):181-190.
- Taylor E. R, and Field, G. T. 2004. Scientific Farm Animal Production an Introduction to Animal Science. Ed ke-8. USA: Person Prentice Hall.
- Virgihani, K. 2011. Tinjauan Resistensi *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis di Peternakan Sapi Perah Kunak Bogor Terhadap Beberapa Antibiotik (Studi Kasus). Institut Pertanian Bogor.
- Wahyuni A. E. T. H., Wibawan I. W. T., dan Wibowo M. H. 2005. Karakterisasi Hemagglutinin *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. Jurnal Sain Veteteriner Vol. 23(2), Bagian Mikrobiologi FKH-UGM, Yogyakarta.
- Wahyuni A. E. T. H., dan Budiarto T. Y. 2010. Peluang Pembuatan Anti Adesi *Escherichia coli* dan *Enterobacter sakazakii* Isolat Indonesia Sebagai Pencegahan Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

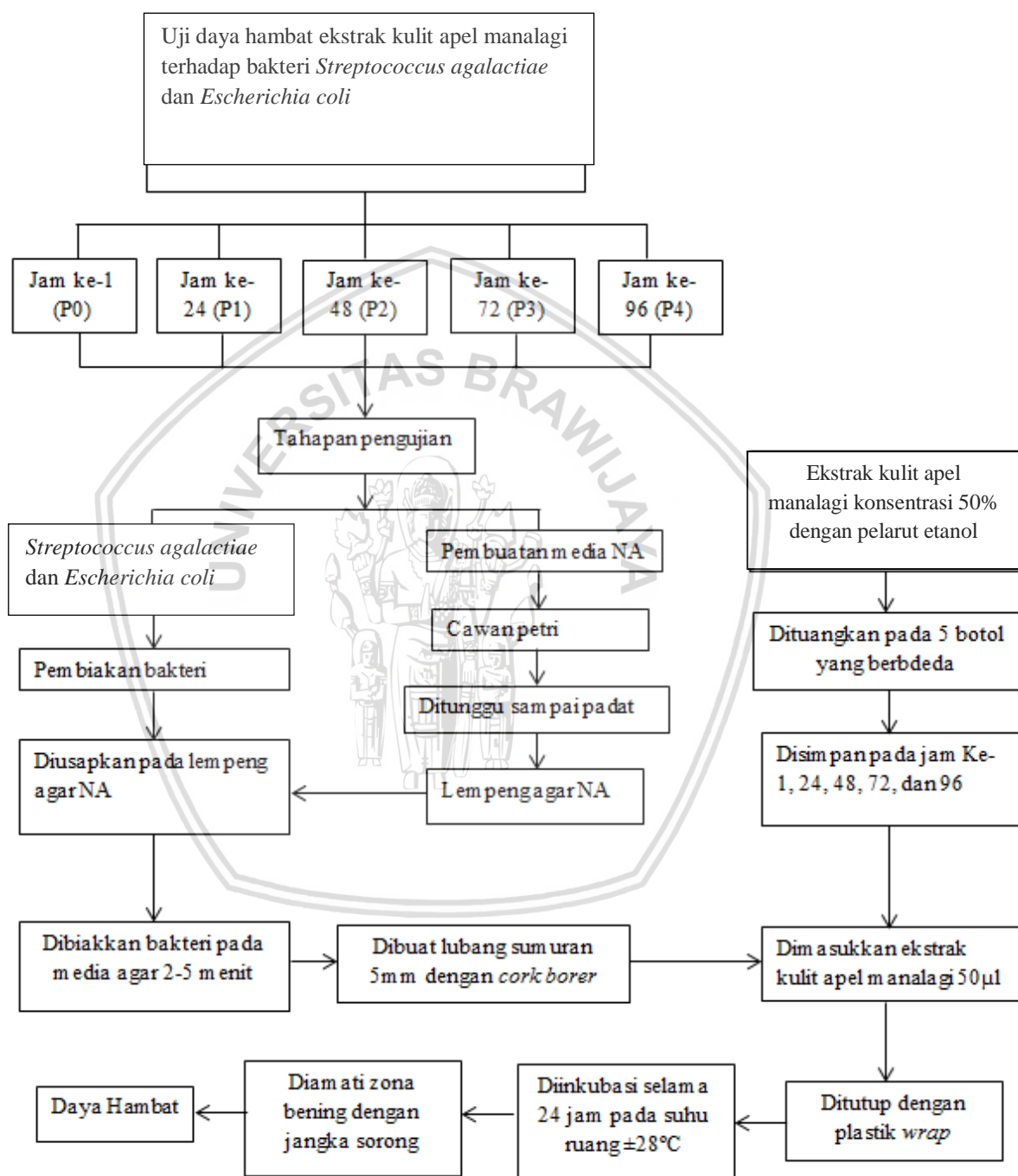
Zhang, H.F. Yang, X.A. Zhao, L.D. dan Wang, Y., (2009). Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of Epimedium and extraction mechanism, Innovative Food Science and Emerging Technologies.



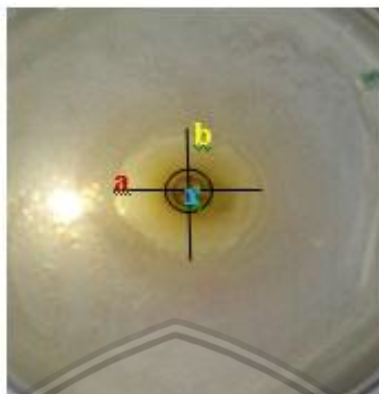


LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Kerja Penelitian



Lampiran 2. Pengukuran Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)



Perhitungan diameter zona hambat menurut Zahara, Muhammad dan Fifi (2013) adalah sebagai berikut :

$$\left(\frac{a+b}{2} \right) - x$$

Keterangan:

- a = diameter vertikal bakteri ditumbuhkan pada media
- b = diameter horizontal bakteri ditumbuhkan pada media
- x = lubang sumuran (5mm)

Lampiran 3. Analisis Statistik Efektivitas Lama Simpan Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli*.

a. Rata-rata zona bening pada bakteri *Streptococcus agalactiae*

Perlakuan	Ulangan (mm)					Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3	4	5		
P ₀ Kontrol	19,55	18,6	18,03	17,9	17,8	91,88	18,37 ± 0,725 ^c
P ₁ Jam ke 24	11,35	10,35	11,45	13,75	11,15	58,05	11,61 ± 1,272 ^b
P ₂ Jam ke 48	12,05	8,75	8,2	8,55	11,4	48,95	9,79 ± 1,792 ^b
P ₃ Jam ke 72	5,55	6,95	7,25	6,9	6,5	33,15	6,63 ± 0,660 ^a
P ₄ Jam ke 96	7,3	5,54	7,9	7,3	7,95	35,99	7,19 ± 0,978 ^a
Total						268,02	

$$\begin{aligned}
 \mathbf{FK} &= \frac{\left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r Y_{ij} \right)^2}{a \times b \times r} \\
 &= \frac{(268,02)^2}{5 \times 5} \\
 &= 2873,39 \\
 \mathbf{JK_{total}} &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r Y_{ij}^2 - \mathbf{FK} \\
 &= (19,55^2 + 18,6^2 + 18,03^2 + \dots + 7,9^2 + 7,3^2 + 7,95^2) - 10026,02 \\
 &= 474,02 \\
 \mathbf{JK_{Perlakuan}} &= \frac{\sum_{j=1}^b \left(\sum_{i=1}^a Y_{ijk} \right)^2}{r} - \mathbf{FK} \\
 &= \frac{(91,88^2 + 58,05^2 + 48,95^2 + 33,15^2 + 35,99^2)}{5} - 2873,39 \\
 &= 447,02 \\
 \mathbf{JK_{galat}} &= \mathbf{JK_{total}} - \mathbf{JK_{perlakuan}} \\
 &= 474,02 - 447,02 \\
 &= 27
 \end{aligned}$$

b.

Analisis ragam pada

bakteri *Streptococcus agalactiae*

SK	Db	JK	KT	Fhitung	F0.05	F0.01
Perlakuan	4	447,02	111,75	82,781	3,01	4,77
Galat	20	27,00	1,35			
Total	24	474,02				

Keterangan : **Daya hambat ekstrak kulit apel manalagi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap diameter zona hambat bakteri *Streptococcus agalactiae*, sehingga dilanjutkan pada uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$SE = \sqrt{\frac{2(KT \text{ Galat})}{Ulangan(r)}} = \sqrt{\frac{2(1,35)}{5}} = 0,7348$$

$$BNT \ 1\% = (t.\text{tabel } 1\%) \times SE$$

$$= 2,845 \times 0,7348$$

$$= 2,091$$

Penotasian

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P4	6,63	a
P3	7,19	a
P2	9,79	b
P1	11,61	b
P0	18,37	c

c. Rata-rata zona bening pada bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Ulangan (mm)					Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3	4	5		
P ₀ Kontrol	14	15,4	14,3	14,6	14,9	73,2	14,64 ± 0,541 ^c
P ₁ Jam ke 24	9,65	10	9,4	9,5	9,8	48,35	9,67 ± 0,238 ^b
P ₂ Jam ke 48	8,2	8,55	8,9	8,4	7,9	41,95	8,39 ± 0,374 ^b
P ₃ Jam ke 72	6,65	6,8	6,7	7	7,1	34,25	6,85 ± 0,193 ^a
P ₄ Jam ke 96	6,4	6,3	6,4	6,9	5,9	31,9	6,38 ± 0,356 ^a
Total						229,65	

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= \frac{\left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r Y_{ijk} \right)^2}{a \times b \times r} \\
 &= \frac{(229,65)^2}{5 \times 5} \\
 &= 2109,56 \\
 \text{JK}_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r Y_{ijk}^2 - \text{FK} \\
 &= (14^2 + 15,4^2 + 14,3^2 + \dots + 6,4^2 + 6,9^2 + 5,9^2) - 2109,56 \\
 &= 222,34 \\
 \text{JK}_{\text{Perlakuan}} &= \frac{\sum_{j=1}^b \left(\sum_{i=1}^a Y_{ijk} \right)^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(73,2^2 + 48,35^2 + 41,95^2 + 34,25^2 + 31,9^2)}{5} - 2109,56 \\
 &= 219,72 \\
 \text{JK}_{\text{galat}} &= \text{JK}_{\text{total}} - \text{JK}_{\text{perlakuan}} \\
 &= 222,34 - 219,72 \\
 &= 2,62
 \end{aligned}$$

Analisis ragam pada bakteri *Escherichia coli*

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0.05	F0.01
Perlakuan	4	219,72	54,93	419,313	3,01	4.77
Galat	20	2,62	0,131			
Total	24	222,34				

Keterangan : **Daya hambat ekstrak kulit apel manalagi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli*. Sehingga dilanjutkan pada uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$SE = \sqrt{\frac{2(KT \text{ Galat})}{Ulangan(r)}} = \sqrt{\frac{2(0,131)}{5}} = 0,2289$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= (t.\text{tabel } 1\%) \times SE \\ &= 2,845 \times 0,2289 \\ &= \mathbf{1,6512} \end{aligned}$$

Penotasian

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P4	6,38	a
P3	6,85	a
P2	8,39	b
P1	9,67	b
P0	14,64	c

Lampiran 4. Pengertian dan Prosedur MC Farland

Mc Farland adalah penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl_2 1% dan H_2SO_4 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bekteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba.

Suspensi Standar Mc. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 CFU/ml.

Komposisi :

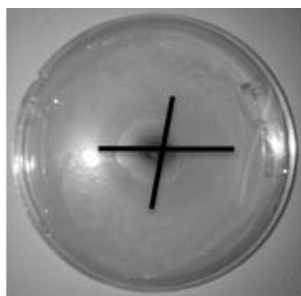
1. Larutan Asam sulfat 1 % b/v 9,5 ml
2. Larutan Barium klorida v/v 0,5 ml

Prosedur Mc Farland:

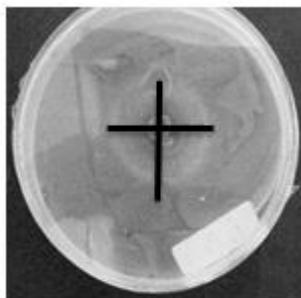
1. Bakteri yang telah diremajakan diambil 1 mL.
2. Diinokulasi ke dalam medium Natrium Agar dengan cara zigzag
3. Diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.
4. Bakteri yang tumbuh dimasukkan ke tabung reaksi.
5. Dilakukan pengenceran.
6. Disiapkan Spektrofotometer dengan setting panjang gelombang 540-600nm.
7. Blanko (medium) dan Sampel kultur (biakan cair) disiapkan masing-masing sebanyak 2 mL ke dalam kuvet steril.
8. Run spektrofotometer.
9. Di catat hasil absorbansi.
10. Disetarakan dengan nilai absorbansi konsentrasi Mc Farland.

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

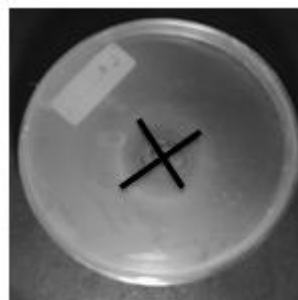
a. Pengujian Uji Daya Hambat Pada Bakteri *Streptococcus agalactiae*



P0



P1



P2



P3

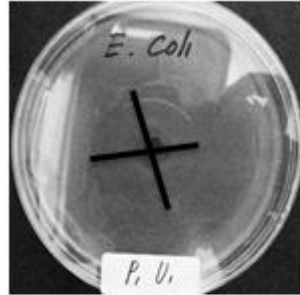


P4

b. Pengujian Uji Daya Hambat Pada Bakteri *Escherichia coli*



P0



P1



P2



P3



P4

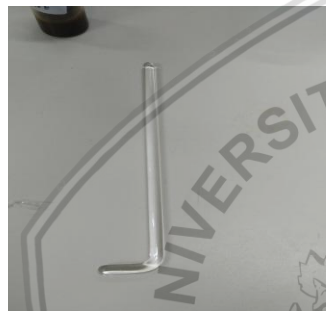
c. Alat dan Bahan



Mikro Pipet



Plastik wrap



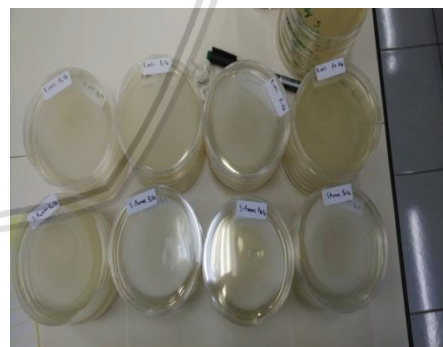
Glass L



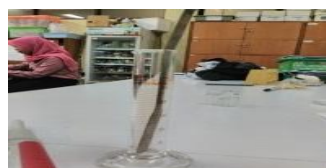
Bunsen



Cork borer



Cawan Petri



Gelas ukur



Kawat ose



Ekstrak kulit apel



Ethanol



Alkohol



Kulit Apel

d. Proses pembuatan simplisia



Proses pengovenan



Proses grinding

- e. Proses Pengujian Daya Hambat Ektrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)



Pembuatan media NA



Penanaman bakteri pada media



Perataan bakteri dengan glass L



Metode sumuran dengan *cork borer*



Pemberian ekstrak



Didiamkan pada suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam